

ГЕНЕТИЧНА МІНЛИВІСТЬ ПОПУЛЯЦІЙ КОРІВ РІЗНИХ ПОРІД ЗА АСОЦІЙОВАНИМИ З РЕЗИСТЕНТНІСТЮ ДНК-МАРКЕРАМИ

Р.О. Кулібаба¹, В.С. Марчук²

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна

¹ професор кафедри біології тварин, romankx37@gmail.com

Інститут тваринництва НААН України, Харків, Україна

²аспірант

Вступ. Одне з основних завдань практичної генетики в селекції великої рогатої худоби полягає в способі оцінки продуктивного потенціалу окремих особин та в їх подальшому відборі для розведення. Аналіз алельного стану функціональних генів, який здійснюється за використання різних типів молекулярно-генетичних маркерів, на рівні безпосередньо ДНК, дозволяє уникнути низки помилок, які притаманні класичним методам селекції, та з недосяжною раніше точністю і відтворюваністю дає можливість для відбору певних особин, які є носіями відповідних варіантів за цілим комплексом поліморфних локусів. Відбір найбільш цінних особин дає, у свою чергу, можливість проводити спрямовану селекційну роботу й отримувати експериментальні лінії тварин з точно встановленими комплексними генотипами. У цьому контексті, одна з основних та поширених проблем вітчизняної генетики у скотарстві – це відсутність елементів новизни у дослідженнях. Незважаючи на практично безмежний рівень мінливості у більшості випадків дослідники використовують дуже обмежену кількість молекулярно-генетичних маркерів та генів для аналізу. Найбільш класичним прикладом у цьому контексті може виступати каппаказеїн. Класичні маркерні мутації в ньому досліджують вже більше тридцяти років і, що найбільш цікаво, ситуація не змінюється. У свою чергу, саме пошук та визначення нових об'єктів досліджень – одне з основних завдань загальної стратегії маркер-асоційованої селекції (MAS). Необхідність пошуку нових об'єктів є, безумовно, актуальним завданням та об'єктивним фактом, тому у сучасній лабораторії слід зосередити зусилля саме на ньому.

У лабораторії молекулярно-генетичних досліджень кафедри біології тварин НУБіП України, а також у лабораторії молекулярно-генетичних і фізіолого-біохімічних досліджень Інституту тваринництва НААН проводиться робота з дослідження поліморфізму низки генів за маркерними мутаціями, пов'язаними з резистентністю корів до різних захворювань. Це питання є надзвичайно актуальним через потенційну небезпеку проведення селекційної роботи, спрямованої виключно на підвищення показників продуктивності особин. Так, наприклад, у деяких випадках, селекційна робота з комерційними породами корів призводить до погіршення показників резистентності тварин, що свідчить про необхідність врахування цього потенційного фактору в розробці племінних програм. Незважаючи на переважання інтересів дослідників у бік досягнення, у першу чергу, максимальної продуктивності тварин, питання резистентності до захворювань все частіше виноситься на порядок денний, що, додатково до всього, визначається й економічними характеристиками питання у цілому. Виходячи зі всього вищенаведеного, в лабораторії авторів проводяться дослідження з визначення поліморфізму локусів, алельні варіанти яких пов'язані з чутливістю/резистентністю тварин до захворювань (мастит, лейкоз та інші) у популяціях корів різних порід та напрямів продуктивності, яких розводять в Україні.

Мета роботи – дослідження особливостей генетичної структури популяцій корів різних порід української селекції за пов'язаними з резистентністю до різних захворювань маркерними мутаціями у генах *TLR1*, *TLR4*, *IFNGR2*, *SLC11A1*, *TNF α* та *MBL1*.

Методика. Дослідження проведені в лабораторії молекулярно-генетичних досліджень кафедри біології тварин НУБіП України та в лабораторії молекулярно-генетичних досліджень і фізіолого-біохімічних досліджень у тваринництві Інституту тваринництва НААН. В якості об'єкта досліджень використовували корів різних порід: українська чорно-

ряба молочна порода, українська червоно-ряба молочна порода, сіра українська порода та шароле. В якості основного використовували метод PCR-RFLP (рестрикційний аналіз) та ACRS-PCR (внесення штучного сайту рестрикції). Генотипування особин проводили за результатами аналізу розмірів рестрикційних фрагментів у гелі. Візуалізацію продуктів ампліфікації проводили за використання бромистого етидію. Розділення продуктів ампліфікації здійснювали за використання агарозних гелів різних концентрацій.

Результати та їх інтерпретація. За результатами проведених досліджень встановлено, що в усіх дослідних популяціях великої рогатої худоби гени *TLR1*, *IFNGR2*, *SLC11A1*, *TNF α* та *MBL1* є поліморфними, у той час як *TLR4* за трьома мутантними варіантами (8732G>A, 8834G>C та 2021C>T) виявився мономорфним. За розподілом частот алелів за виявленими поліморфними локусами встановлено наступну картину. Для всіх дослідних популяцій корів за *TLR1* (1596G>A) виявлено переважання частоти алелю G над A, що досягає свого максимального значення в популяції сірої української породи.

За *SLC11A1* (дві мутації у гені) у всіх популяціях відмічено суттєве превалювання значень частоти алелю C (SNP5 7400C>G) та A (SNP6 7808A>T). Максимальне превалювання відмічено для популяції корів породи шароле, мінімальне (відносно інших порід) – для молочних порід корів. Слід зазначити, що певні обмеження на загальну генетичну структуру за вище зазначеними SNP гену *SLC11A1*, додає той факт, що ці мутації є пов'язаними, тому повинні розглядатися в якості гаплотипів. За співвідношенням алелів можна спостерігати процес поступової фіксації алелю A (SNP6 7808A>T) та, відповідно, гаплотипу AC, особливо в популяції корів породи шароле, в якій значення частоти алелю T фактично не перевищує загальноприйнятого порогового значення для поліморфності локусу (5 %).

За локусом *IFNGR2* (1008A>G) виявлено подібну картину – встановлено домінування частоти алелю A над G для всіх дослідних популяцій корів незалежно від напряму продуктивності. Для всіх порід, за виключенням шароле, характерним є виражений ексцес гетерозиготних особин (аутбридинг). У свою чергу, популяція корів породи шароле характеризується збалансованим станом за параметром індексу фіксації – рівень ексцесу гетерозигот дорівнює 2,6 %, та знаходиться, фактично, у межах статистичної похибки.

За розподілом частот алелів за мутацією -824A>G гена фактору некрозу пухлин альфа (*TNF α*) у дослідних популяціях також спостерігаються певні відмінності. Зокрема, якщо в популяції корів породи українська червоно-ряба молочна переважає алель G (частота якого складає 0,61), то в популяції корів породи українська чорно-ряба таке переважання відсутнє і частоти алелів характеризуються фактично паритетними значеннями (0,5 vs 0,5). Для популяції корів породи шароле також встановлено превалювання частоти алелю G над A (майже двократне) за рахунок більшої кількості особин з генотипом GG (39 %). Сіра українська порода за співвідношенням частот відповідних алелів займає проміжне положення. Для всіх дослідних популяцій наявний ексцес гетерозиготних особин, який досягає свого максимуму в популяції української чорно-рябої молочної породи.

Згідно з отриманими результатами за поліморфізмом гену *MBL1* (2651G>A) встановлено виражені відмінності між породами корів з різним напрямом продуктивності. Так, для молочних порід є характерним переважання частоти алелю A (StyI+) у порівнянні з алелем G (StyI-). При цьому, для кожної групи тварин характерним є виражений ексцес гетерозиготних особин, який досягає максимального значення у популяції української червоно-рябої молочної породи (рівень аутбридингу складає 55 %). У свою чергу, для породи м'ясного напряму продуктивності (шароле) можемо бачити діаметрально протилежну картину – суттєве переважання частоти алелю G (StyI-) у порівнянні з A (StyI+) за рахунок значної кількості гомозиготних особин GG. Також, для цієї популяції, встановлений виражений ексцес гомозиготних особин (рівень інбридингу досягає майже 38 %). Сіра українська порода займає проміжне положення за значенням дослідних показників.

Отримані результати досліджень можна використовувати в якості підґрунтя для проведення подальшої племінної роботи з дослідними популяціями корів згідно завдань програм маркер-асоційованої селекції (MAS).